



REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br

Comunicação breve

A hepcidina-25 dá uma indicação da eficácia terapêutica do tocilizumab na artrite reumatoide – Relação entre a atividade da doença na artrite reumatoide e a anemia

Hepcidin-25 gives an indication of the therapeutic effectiveness of tocilizumab in rheumatoid arthritis – Relationship between disease activity of rheumatoid arthritis and anemia

Satoshi Suzuki^{a,b,*}, Souichiro Nakano^{a,b}, Seiichiro Ando^a, Ran Matsudaira^a, Yoshinori Kanai^a, Kenjiro Yamanaka^a e Yoshinari Takasaki^b

^a Kyoundo Hospital, Sasaki Institute, Department of Rheumatology and Internal Medicine, Tóquio, Japão

^b Juntendo University School of Medicine, Department of Rheumatology and Internal Medicine, Tóquio, Japão

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 16 de junho de 2015

Aceito em 24 de julho de 2016

On-line em xxx

Introdução

O tratamento para a AR melhorou rapidamente desde o advento dos agentes biológicos. No entanto, embora os agentes biológicos tenham um efeito maior em comparação com os fármacos antirreumáticos modificadores da doença (DMARD) convencionais, o custo dessas novas terapias continua a ser extremamente alto.¹ Os pacientes nos quais os agentes biológicos são eficazes têm melhores oportunidades de emprego em consequência da redução na atividade da doença. Isso significa que a relação custo-eficácia do tratamento é válida. No entanto, nos casos em que a administração de agentes biológicos não está associada à resposta, a atividade da doença

durante o período de tratamento e a progressão dos danos articulares impõem uma carga incalculável sobre os pacientes e sobre todo o sistema de saúde. Por essa razão, a identificação de fatores que podem prever a eficácia dos agentes biológicos em cada paciente antes da administração é uma questão essencial; atualmente são pesquisadas terapias sob medida que usam polimorfismos de nucleotídeo único (SNP). No Japão, os produtos biológicos atualmente disponíveis para uso na AR incluem aqueles voltados para o fator de necrose tumoral (TNF)- α (infliximab, etanercept, adalimumabe, golimumab e certolizumab pegol), o tocilizumab (TCZ), que tem como alvo a IL-6, e o abatacept, que tem como alvo o CD80/86. Relatou-se previamente a relação entre a terapia com TNF- α e autoanticorpos (anticorpos anti-dsDNA e anticorpos

* Autor para correspondência.

E-mail: satsuzu@juntendo.ac.jp (S. Suzuki).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2016.07.004>

0482-5004/© 2016 Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Tabela 1 – Características dos pacientes

Pacientes	Sexo	Idade (anos)	Duração (anos)	Hb (g/dL)	PCR (mg/dL)	MMP3 (ng/mL)	CDAI (CDAI 24 semanas depois)	MTX (mg/semana)	PSL (mg/dia)	Biológicos anteriores
1	F	78	4	13,0	0,8	96	8,0 (6,2)	8	4	ETN
2	M	58	2	13,6	2,3	258	34,2 (24,9)	7,5	10	-
3	F	73	3	11,4	5,1	243	31,6 (29,7)	-	-	-
4	F	51	4	11,1	2,7	170	26,0(1,0)	10	10	INF
5	F	61	7	12,5	0,6	284	16,3 (4,0)	8	7,5	-
6	F	46	7	13,3	1,8	176	14,3 (10,9)	6	8	INF
7	F	49	13	13,6	0,2	-	19,5 (1,1)	-	-	ETN
8	F	73	21	10,0	0,1	150	16,0 (24,0)	10	7,5	-
9	F	60	20	12,4	3,2	714	24,5 (40,0)	6	4	INF
10	F	39	6	10,1	4,2	403	29,2 (8,0)	8	4	INF

CDAI, índice clínico de atividade da doença; ETN, etanercept; Hb, hemoglobina; INF, infliximab; MMP3, metaloproteinases de matriz 3; MTX, metotrexato; PCR, proteína C-reativa; PSL, prednisolona.

anti-SS-A) em pacientes com respostas insuficientes.² No presente estudo, examinaram-se os fatores preditivos para o efeito terapêutico dos produtos biológicos, com foco no efeito do TCZ na melhoria da anemia da inflamação crônica via inibição direta da sinalização da IL-6 mediada por receptor.³ A hepcidina-25, uma das principais causas da anemia da inflamação crônica,⁴ foi medida no soro de pacientes com AR. Compararam-se os níveis séricos de hepcidina-25 com os dados clínicos e os níveis de citocinas para examinar se a hepcidina-25 poderia atuar como um fator preditivo da eficácia do TCZ.

Material e métodos

Pacientes

Os 10 pacientes selecionados para inclusão no estudo já haviam sido internados na Divisão de Medicina Interna e Reumatologia do Instituto Sasaki do Hospital Kyoundo entre setembro de 2008 e setembro de 2010. Os pacientes tinham começado o tratamento com TCZ durante esse período e eram virgens para agentes biológicos ou tinham mudado de outros agentes biológicos para TCZ. Todos os pacientes com AR atendiam aos critérios revisados de 1987 do *American College of Rheumatology* (ACR) para a classificação da artrite reumatoide.⁵ De acordo com a Declaração de Helsinque e as diretrizes do Conselho de Revisão Institucional do Hospital Kyoundo, obteve-se um termo de consentimento por escrito de todos os pacientes antes do início do estudo. As características dos 10 pacientes são mostradas na [tabela 1](#).

Métodos

Mensuraram-se os níveis de hepcidina-25 e IL-6 antes da introdução do TCZ e três meses após a introdução. As amostras de soro foram armazenadas a -80 °C. A hepcidina-25 sérica, que se acredita seja a forma de hepcidina com maior bioatividade, foi medida com o uso de um ensaio de imunoadsorção enzimática (Elisa) (kit Hepcidina-25 EIA; Bachem, Bubendorf, Suíça). Mediu-se também a IL-6 sérica com o uso do método Elisa (kit Human IL-6 Quantikine Elisa; R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA). A hepcidina-25 e a IL-6

foram medidas com o protocolo Elisa sanduíche. Os resultados dos exames de rotina feitos durante a avaliação geral no Hospital Kyoundo, incluindo hemoglobina sérica, proteína C-reativa (PCR) e velocidade de hemossedimentação (VHS), também foram usados em nossa análise. A atividade da doença na AR foi avaliada pelo índice clínico de atividade da doença (CDAI). O teste t de Student foi usado para análise estatística. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

Eficácia terapêutica do TCZ em pacientes com AR

Os resultados do CDAI nos pacientes antes e depois do tratamento com TCZ são mostrados na [fig. 1A](#).

Seis meses após o início do tratamento com TCZ, observaram-se níveis mais baixos de CDAI em oito de 10 pacientes.

Comparação dos níveis séricos de hepcidina-25 em pacientes com AR e indivíduos saudáveis

Em uma comparação da hepcidina-25 sérica em pacientes com AR antes do tratamento com TCZ e em indivíduos saudáveis, os níveis de hepcidina-25 eram significativamente mais altos em pacientes com AR ([fig. 1B](#)).

Alterações na hepcidina-25 e IL-6 em pacientes com AR

Os níveis séricos de hepcidina-25 e IL-6 em pacientes com AR antes da administração de TCZ e 12 semanas (três meses) após a administração são mostrados na [fig. 1C](#).

Hepcidina-25

Os níveis séricos de hepcidina-25 estavam elevados em oito de 10 pacientes antes da administração de TCZ; nesses oito pacientes, os níveis diminuíram após o tratamento com TCZ. No entanto, nos dois pacientes que tinham níveis relativamente baixos antes da administração, o tratamento com TCZ esteve associado a um aumento na hepcidina-25. Esses resultados refletiram a eficácia do tratamento com TCZ. Nos oito pacientes que exibiram uma diminuição na hepcidina-25, o

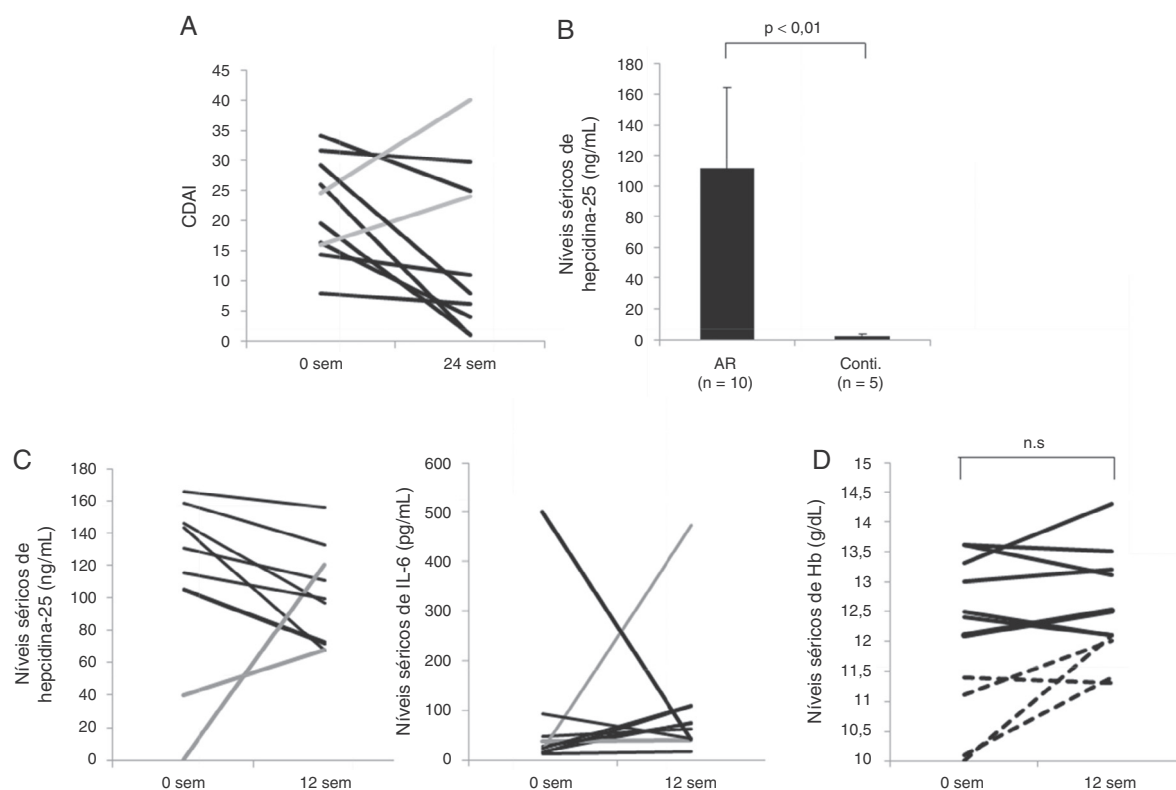


Figura 1 – A, seis meses após o início do tratamento com TCZ, o CDAI foi inferior em oito de 10 pacientes e, por conseguinte, o TCZ foi considerado eficaz. Verificou-se que o TCZ foi ineficaz em dois de 10 pacientes; **B,** em uma comparação dos níveis séricos de hepcidina-25 em pacientes com AR e indivíduos saudáveis, encontrou-se que a hepcidina-25 está significativamente elevada em pacientes com AR ($p < 0,01$); **C,** observaram-se níveis séricos elevados de hepcidina-25 antes da administração de TCZ e diminuídos três meses após o início do tratamento. No entanto, dois de 10 pacientes tinham níveis pré-administração que eram relativamente baixos; esses níveis aumentaram após o tratamento com TCZ. Esses dois casos foram consistentes com os dois pacientes nos quais o TCZ foi considerado ineficaz seis meses após o início do tratamento. A linha cinza indica os mesmos pacientes que a linha cinza na [fig. 1A](#); **D,** examinaram-se os níveis séricos de hemoglobina três meses após a administração de TCZ. Observaram-se níveis de hemoglobina elevados em cinco de 10 pacientes. Observaram-se níveis elevados em três de quatro pacientes nos quais a anemia estava presente antes de receber tratamento ($Hb < 12 \text{ g/dL}$, linha pontilhada).

tratamento com TCZ foi eficaz, enquanto nos últimos dois pacientes determinou-se que o tratamento com TCZ foi ineficaz.

IL-6

Como o TCZ é um antagonista do receptor de IL-6, sabe-se que os níveis séricos de IL-6 aumentam temporariamente após a administração.⁶ No presente estudo, os níveis aumentaram na maior parte dos pacientes após a administração de TCZ; no entanto, foi observado um decréscimo em três pacientes.

Relação entre a hepcidina-25 e a anemia

Observaram-se alterações nos níveis séricos de hemoglobina três meses após o início do tratamento com TCZ em comparação com o nível de hemoglobina pré-TCZ ([fig. 1D](#)). Os níveis de hemoglobina, um indicador geral de anemia, aumentaram em cinco de 10 pacientes após a administração de TCZ. Quando a análise foi limitada aos pacientes nos quais a anemia estava presente antes de receber tratamento

($Hb < 12 \text{ g/dL}$), a maior parte dos pacientes mostrou um aumento nos níveis de hemoglobina.

Discussão

A hepcidina é um hormônio peptídico produzido no fígado. Existem várias isoformas conhecidas da hepcidina, incluindo a hepcidina-20 e a hepcidina-22; a hepcidina-25 tem a maior bioatividade e considera-se que tem uma forte relação com o metabolismo do ferro.⁷ O ferro ingerido por via oral é absorvido pelas células epiteliais intestinais. Na presença de deficiência de ferro, o ferro é liberado para o sangue periférico. Quando há presença de deficiência de ferro, o ferro é excretado pelas fezes conforme as células epiteliais são descartadas no lúmen intestinal. A maior parte do ferro absorvido no trato intestinal é armazenada no fígado. O fígado fornece ao sangue periférico uma quantidade adequada de ferro para uso na produção de eritrócitos na medula óssea. Eritrócitos velhos são aprisionados e destruídos pelo sistema reticuloendotelial e o ferro

é absorvido pelo sistema e novamente liberado para o sangue periférico. No caso de doenças inflamatórias crônicas como a AR, há um excesso de produção de IL-6. Quando a IL-6 se liga aos seus receptores no fígado, é produzida hepcidina-25. A hepcidina-25 se liga à ferroportina, expressa em hepatócitos e macrófagos reticuloendoteliais, leva à inibição da absorção intestinal de ferro e à inibição da liberação de ferro pelo sistema reticuloendotelial e hepatócitos; juntos, esses fatores resultam no desenvolvimento de anemia.^{8,9} A expressão da hepcidina é suprarregulada pelo ferro e inflamação e infrarregulada pela anemia e hipóxia.¹⁰

Com base nesse conhecimento, considera-se que os pacientes com AR com atividade da doença elevada e níveis séricos elevados de 25-hepcidina são especialmente influenciados pela IL-6¹¹; prediz-se que o tratamento com TCZ seja particularmente eficaz nesses pacientes. No entanto, no presente estudo, o TCZ não foi eficaz em dois casos, embora os níveis séricos de IL-6 antes do tratamento estivessem anormalmente elevados; em um desses casos, os níveis séricos de hepcidina-25 estavam baixos (fig. 1 C). Relatou-se anteriormente que embora a anemia da inflamação crônica possa estar presente em pacientes com AR, também foi observado um baixo nível de hepcidina, que é fortemente indicativo de deficiência de ferro.¹² No presente estudo, observou-se importante deficiência de ferro em pacientes que tinham níveis séricos de IL-6 anormalmente elevados associados a baixos níveis de hepcidina-25.

Concluiu-se que como os níveis séricos de hepcidina-25 diminuíram após a administração de TCZ e foi observada melhoria da anemia associada, o TCZ pode melhorar a anemia da inflamação crônica.

Os pacientes que tinham altos níveis de hepcidina-25 antes da administração de TCZ e níveis mais baixos três meses após o tratamento ainda foram avaliados como tendo tido uma boa resposta seis meses após o tratamento. Com base nisso, considera-se que a hepcidina-25 pode atuar como um fator preditivo para a eficácia do tratamento com TCZ. No entanto, é preciso ter cuidado na determinação de casos de anemia por deficiência de ferro. A medição da hepcidina pode ser facilmente feita e pode-se esperar o uso da hepcidina como um indicador clínico em pacientes com AR.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. van der Velde G, Pham B, Machado M, Ieraci L, Witteman W, Bombardier C, et al. Cost-effectiveness of biologic response modifiers compared to disease-modifying antirheumatic drugs for rheumatoid arthritis: a systematic review. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63:65–78.
2. Matsudaira R, Tamura N, Sekiya F, Ogasawara M, Yamanaka K, Takasaki Y. Anti-Ro/SSA antibodies are an independent factor associated with an insufficient response to tumor necrosis factor inhibitors in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2011;38:2346–54.
3. Isaacs JD, Harari O, Kobold U, Lee JS, Bernasconi C. Effect of tocilizumab on haematological markers implicates interleukin-6 signalling in the anaemia of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2013;15:R204.
4. Masson C. Rheumatoid anemia. *Joint Bone Spine*. 2011;78:131–7.
5. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1988;31:727–35.
6. Nishimoto N, Hashimoto J, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, et al. Study of active controlled monotherapy used for rheumatoid arthritis, an IL-6 inhibitor (SAMURAI): evidence of clinical and radiographic benefit from an x ray reader-blinded randomised controlled trial of tocilizumab. *Ann Rheum Dis*. 2007;66:1162–7.
7. Park CH, Varole EV, Waring EJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*. 2011;276:7806–10.
8. Yoshizaki K. A new therapeutic strategy for autoimmune and chronic inflammatory disease based on clinical results using IL-6 blocking therapy with a humanized anti-IL-6 receptor antibody. *Yakugaku Zasshi*. 2009;129:667–74.
9. Hashizume M, Mihara M. The roles of interleukin-6 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis*. 2011;ID765624, 8 pages.
10. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest*. 2002;110:1037–44.
11. Manal Aly AK, Amal Mohamad EB, Salwa AME, Abeer SG. Serum hepcidin: a direct link between anemia of inflammation and coronary artery atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2011;38:2153–9.
12. Pagani A, Nai A, Corna G, Bosurgi L, Rovere-Querini P, Camaschella C, et al. Low hepcidin accounts for the proinflammatory status associated with iron deficiency. *Blood*. 2011;118:736–46.